

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE PROTOTIPOS DE SUSTITUTOS ÓSEOS ACELULARES GENERADOS POR BIOINGENIERÍA DE TEJIDOS PARA RESOLUCIÓN DE LESIONES CRÍTICAS DE HUESO Y OSTEOGÉNESIS GUIADA

Investigadores USAL: Kokubu, Gabriel Adrián (gabriel.kokubu@usal.edu.ar); Leirós, Gustavo; Balañá, María Eugenia; López Ferrucci, Débora.

Investigadores Externos: Kokubu, Sabrina; Hagelin, Karin; Montaner, Alejandro Daniel.

Alumnos Practicantes USAL: Mahmoudian, Nima.

Palabras clave: Osteogénesis; Regeneración ósea; Bioingeniería de Tejidos, Moléculas osteoinductoras, Sustitutos óseos.

Resumen

El hueso es el único tejido postnatal que se regenera íntegramente. Sin embargo, en casos de lesiones de gran extensión (fracturas traumáticas o patológicas), infección o pérdida de la homeostasis (osteoporosis), la capacidad de regeneración puede fallar o ser inadecuada. Los injertos de hueso autólogo u homólogo son alternativas terapéuticas en lesiones óseas críticas, ya que proveen células osteogénicas y factores osteoinductivos y osteogénicos. Sin embargo, su utilización se ve comprometida por la cantidad limitada de hueso que puede obtenerse y la morbilidad que se genera en el área dadora.

Otra opción terapéutica podrían ser los sustitutos óseos generados por bioingeniería, que implican una matriz biocompatible, reabsorbible, permeable, y que además sean osteoinductivos y osteoconductivos.

Nuestro proyecto apunta al desarrollo de un sustituto óseo que combine una matriz o andamiaje que contenga sustancias activas que mejoren la regeneración ósea en lesiones críticas de hueso. Por lo tanto, nos planteamos los siguientes objetivos generales: 1) generación y evaluación de un sustituto óseo libre de células por bioingeniería, usando matrices de colágeno cargadas con BMP-2 (Bone Morphogenetic Protein-2), IMT-504 (Oligonucleótido PyNTTTTGT) o una combinación de ambos que permita la regeneración ósea en calota de rata y 2) evaluar la combinación de estos mismos dispositivos con un molde de nanocelulosa como retardador de fibrosis en un modelo de osteogénesis guiada. Hasta la actualidad, se completaron los ensayos correspondientes al objetivo 1) y resta para el año 2019 terminar los ensayos correspondientes al objetivo 2). Los dispositivos descriptos para este primer objetivo fueron evaluados mediante su injerto en lesiones óseas críticas en calota de ratas wistar en los siguientes grupos: Grupo 1: Dispositivo BMP-2, grupo 2: Dispositivo IMT-504, Grupo 3: Dispositivo mixto BMP-2/IMT-504, grupo control: membrana de colágeno sola, y grupo control absoluto: herida sin ningún dispositivo. La mitad de los animales de cada grupo fueron sacrificados a los 10 días y los otros a los 40 días.

Los estudios radiográficos a 10 días no mostraron diferencias significativas en el cierre de la herida

entre los distintos grupos. 40 días poscirugía, todos los grupos mostraron una disminución significativa de la lesión respecto a los 10 días. Cuando comparamos los tratamientos a 40 días, solo el grupo BMP2, y el control, mostraron un mejor cierre de lesión que el control absoluto. Analizados los grupos completos, confirmamos que la presencia de BMP2 en la matriz de colágeno mostró un mejor cierre que la matriz sola. Por el contrario, la presencia del ODN504 no solo no mejoró el cierre comparado con el grupo BMP2, sino que incluso fue peor que el cierre de la herida en el grupo control. Este efecto fue parcialmente revertido por BMP2 en el grupo BMP2-ODN504. Estos resultados parecen mostrar que BMP2 mejora el cierre de la herida, mientras que el ODN504 mostraría el efecto contrario.

Keywords: Osteogenesis; Bone regeneration; Tissue bioengineering; Osteoinductive molecules; Bone substitutes.

Abstract

Bone is the only postnatal tissue that completely regenerates itself. However, in cases of large lesions (traumatic or pathological fractures), infection or loss of homeostasis (osteoporosis), its ability to regenerate may fail or be inappropriate. Autologous or homologous bone grafts are therapeutic alternatives in critical bone lesions, since they provide osteogenic cells and osteoinductive and osteogenic factors. However, its use is compromised by the limited amount of bone that can be obtained and the morbidity that is generated in the donor area.

Another therapeutic option could be bone substitutes generated by bioengineering, which involve a biocompatible, reabsorbable, permeable matrix, and which are osteoinductive and osteoconductive as well.

This project aims to develop a bone substitute that combines a matrix or scaffold containing active substances that improve bone regeneration in critical bone lesions. Therefore, the following general objectives were established: 1) generation and evaluation of a cell-free bone substitute by bioengineering, using collagen matrices loaded with BMP-2 (Bone Morphogenetic Protein-2), IMT-504 (PyNTTTTGT Ologonucleotide) or a combination of both that allows bone regeneration in rat shell and 2) assessment of the combination of these devices by means of a nanocellulose mold as a fibrosis retarder in a guided osteogenesis model. Until now, the tests corresponding to objective 1) have been completed and the ones corresponding to objective 2) will be completed by the end of 2019. The devices described for this first objective were evaluated by grafting critical bone lesions in the wistar rat shell in the following groups: Group 1: BMP-2 device; group 2: IMT-504 device; group 3: BMP-2 / IMT-504 combined device; control group: collagen membrane alone; and absolute control group: wound without any device. Half of the animals in each group were sacrificed at 10 days and the rest at 40 days.

The 10-day radiographic studies showed no significant differences in wound closure among the diverse groups. All groups showed a significant decrease in the lesion at 40 days after surgery, compared to 10 days post surgery. When the 40-day treatments were compared, only the BMP2 and control group showed a better closure of the lesion than the absolute control group. Once all groups were completely analyzed, it was confirmed that the presence of BMP2 in the collagen matrix showed a better closure than the matrix without BMP2. On the contrary, ODN504 not only did not improve the closure compared to the BMP2 group, but it was even worse than the wound closure in the control group. This effect was partially reversed by BMP2 in the BMP2-ODN504 group. These results seem to show that BMP2 improves wound closure, while ODN504 would have the opposite effect.